



## 生命科学学院黄强课题组与卢大儒课题组发表 基因编辑系统CRISPR-Cas9研究新成果

来源：生命科学学院 发布时间：2017-11-10 [中字体](#)

11月9日，复旦大学生命科学学院、遗传工程国家重点实验室黄强课题组与卢大儒课题组合作的关于基因编辑系统CRISPR-Cas9的研究成果在线发表于国际知名学术期刊《自然·通讯》(Nature Communications)。该成果用冷冻电镜单颗粒三维重构方法解析了CRISPR-Cas9的DNA剪切活性结构，在CRISPR-Cas9的DNA剪切机理研究方面取得了重要进展。

目前，基于细菌获得性免疫系统发展出的CRISPR-Cas9技术已成为革命性的基因编辑工具，这一“基因魔剪”可以方便地对基因组DNA进行高效、特异性的切割编辑，在生物医学领域有着巨大的应用潜力。为了解该系统的DNA剪切机理、指导系统的优化，过去几年，众研究机构陆续解析了多个“Cas9-sgRNA-DNA靶链”的三元复合物晶体结构。然而，这些复合物结构并没有完全揭示出真正的DNA剪切活性构象，人们对CRISPR-Cas9如何通过HNH与RuvC核酸酶域切割DNA单链的分子机制还很不明确。因此，获得CRISPR-Cas9的剪切活性结构成为了揭示该系统DNA剪切机理的关键。

针对上述研究问题，黄强与卢大儒研究团队早在2014年就考虑采用冷冻电镜方法来解决。他们首先构建了酿脓链球菌Cas9酶 (SpCas9)、sgRNA和DNA的三元复合物，然后用冷冻电镜单颗粒三维重构方法解析该复合物的溶液结构，获得了一个5.2埃分辨率的冷冻电镜结构 (图1)。

复合物结构的原子模型显示，在已解析的所有结构中，该复合物的HNH酶活性中心最接近DNA链的切割位点；分子动力学模拟及点突变实验表明，该复合物的HNH和RuvC核酸酶活性中心的催化氨基酸可以与DNA解旋单链形成切割反应所需构象。因此，研究获得的复合物结构是CRISPR-Cas9的DNA剪切激活构象，为全面揭示剪切机理提供了关键的活性结构信息，并为应用蛋白质工程技术优化该系统、降低其脱靶效应提供了重要的结构生物化学基础。目前，研究团队正在所得结构的指导下，应用蛋白质设计方法对CRISPR-Cas9系统进行优化，以开发脱靶效应低、编辑效率高的新型基因编辑系统。

[推荐](#) [收藏](#) [打印](#) [关闭](#)

本周新闻排行

相关链接

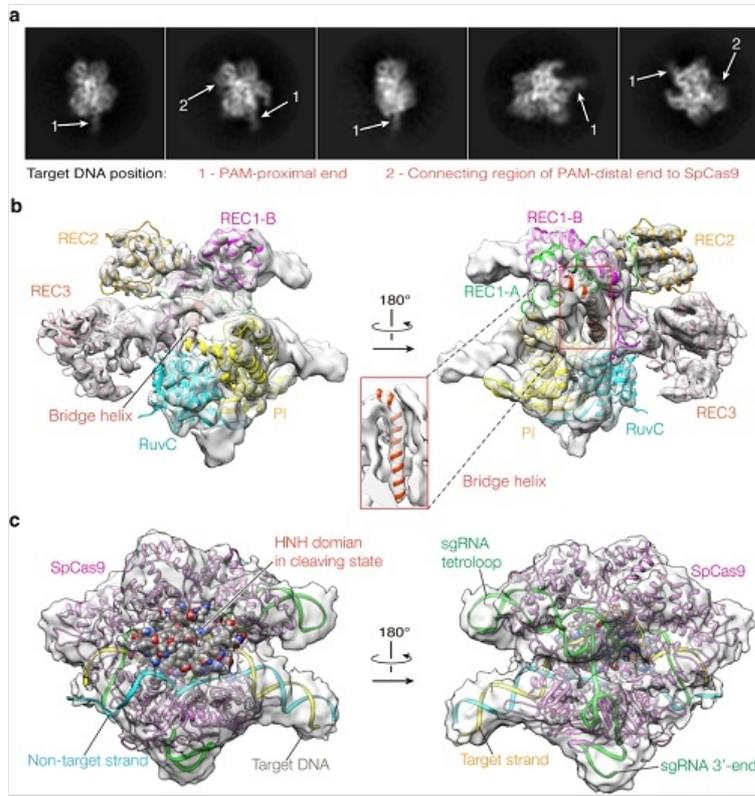


图1. SpCas9-sgRNA-DNA的复合物结构

据悉，博士研究生怀聪和硕士研究生李干为论文的并列第一作者，黄强教授与卢大儒教授为并列通讯作者。研究团队利用国家蛋白质科学中心（上海）的电镜平台采集了冷冻电镜图像，并主要使用课题组自己建立的电镜图像分析与分子建模平台完成了三维重构和原子模型构建工作。有关研究项目获得了国家自然科学基金等项目支持。（封面制图：方圆）

相关文章

已有0位网友发表了看法

[查看评论](#)

我也来说两句!

验证码:  [发表评论](#)

[网站导航](#) - [投稿须知](#) - [投稿系统](#) - [新闻热线](#) - [投稿排行](#) - [联系我们](#)